

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara agraris yang mengandalkan sektor pertanian sebagai sumber mata pencaharian. Tanaman bawang merah (*Allium ascalonium* L.) yaitu salah satu komoditas unggulan pemerintah Indonesia saat ini. Jenis komoditas ini memberi kontribusi yang cukup tinggi terhadap perkembangan ekonomi wilayah karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi, selain itu bawang merah memiliki fungsi sebagai bumbu penyedap makanan serta bahan obat tradisional dikalangan masyarakat, namun demikian hasil produksi bawang merah dihadapkan pada kendala tingginya biaya produksi untuk perawatan tanaman bawang merah. Usaha bawang merah membutuhkan biaya yang tinggi terutama untuk benih, pemeliharaan umbi, dan tenaga kerja. Selain turunnya kualitas input rendah, serangan hama pada bawang merah semakin sulit untuk ditangani karena hama ulat bawang semakin resisten terhadap obat-obatan akibat dari penyemprotan yang berlebihan pada tanaman bawang merah (Aldila, 2017).

Hama yang sering menyerang tanaman bawang merah adalah jenis ulat grayak (*Spodoptera exigua*) yang merusak tanaman sehingga menyebabkan proses pertumbuhan menjadi terganggu dan berdampak pada produksi hasil yang menurun. Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat, Indonesia memproduksi bawang merah sebanyak 1,97 juta ton pada 2022, jumlah tersebut turun sebesar 1,51% dibandingkan pada tahun sebelumnya yang mencapai 2 juta ton. Provinsi Sulawesi Selatan jumlah memproduksi bawang merah menurut Badan Pusat Statistika (2023) sebesar 13,87 juta ton pada tahun 2021, sedangkan pada tahun 2022 terjadi penurunan produksi dengan jumlah 9,77 juta ton. Dalam hal ini salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi bawang merah yaitu dengan mengendalikan populasi serangan dari hama *S. exigua* agar produksi yang didapatkan tetap stabil (Paparang, 2016).

Kerugian yang diakibatkan dari serangan *S. exigua* pada bawang merah menyebabkan turunnya hasil pada masing-masing sebesar 32–42% pada tanaman bawang merah yang berumur 49 hari. Serangan dari *S. exigua* mencapai 62,98% dari rata rata populasi larva 11,52 individu/rumpun yang berarti kehilangan hasil berkisar antara 46,56–56,94%. Jika serangan *S. exigua* relatif berat pada awal fase pembentukan umbi, maka resiko gagal panen akan lebih besar kehilangan hasil produksi panen bawang merah akibat serangan dari *S. exigua*. Serangan berat dapat menyebabkan kehilangan hasil sampai 100% jika tidak dikendalikan segera. Serangan berat ini biasanya terjadi pada musim kemarau yang mengakibatkan produksi tanaman menurun (Prasetya, 2021).

Kerusakan paling parah dari serangan *S. exigua* yaitu terjadi pada instar larva dimana larvanya akan masuk ke dalam daun dan memakan bagian dalam daun bawang merah sehingga tanaman bawang merah akan layu dan terdapat gejala kerusakan daun dengan lubang kecil bekas gerakan larva di permukaan

daun. Serangan ulat ini *S. exigua* menyebabkan daun bawang terlihat menerawang tembus cahaya atau terlihat bercak-bercak putih, akibatnya daun jatuh terkulai, pada serangan berat daun akan terpotong-potong. Biasanya dalam jumlah yang banyak atau besar larva ini bersama-sama pindah dari tanaman yang telah habis dimakan daunnya ke tanaman lainnya (Achmad, 2023).

Salah satu jenis cendawan yang menguntungkan dalam dunia pertanian adalah cendawan *A. flavus* dan *A. niger* yang dimana manfaatnya dapat dijadikan sebagai agens hayati. Cendawan *A. flavus* diketahui dapat menghasilkan senyawa berupa enzim kitinase, glukonase, dan protease, yang dapat berperan menghambat perkembangan pada patogen, *A. flavus* dapat dilihat secara makroskopis pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dengan ciri – ciri yaitu koloni berwarna hijau muda dengan bentuk koloni granular dan kompak yang dimana miselium berwarna putih dengan bagian tengah dipenuhi oleh konidia berwarna hijau kekuningan pada tekstur permukaan berkoloni seperti beludru, Hakim (2023). Pada cendawan jenis *A. niger* merupakan cendawan antagonis yang dapat menghasilkan senyawa zat *Aspergillin*, dan enzim hidrolitik seperti lipase, protease, selulase dan pektinase endofit dapat memperlambat pertumbuhan patogen. Secara makroskopis *A. niger* berwarna hitam yang diawali dengan indikasi berwarna putih, koloni berbentuk bulat, jika umur koloni maka tua akan semakin hitam warnanya (Erdiansyah, 2023).

Jenis cendawan *A. flavus* dan *A. niger* diuji dapat mengendalikan serangan berbagai patogen. Menurut Jumiaty, (2021) menyatakan *A. flavus* pada umumnya patogen menginfeksi tubuh serangga inang melalui membran intersegmental, menyebar keseluruh pada lapisan dinding tubuh dengan bantuan enzim proteinase, lipase dan kitinase yang memiliki kemampuan untuk memecah komponen dinding sel patogen, sedangkan pada cendawan *A. niger* dapat menghasilkan senyawa zat aspergillin yang berperan dalam menghambat perkembangan cendawan patogen dan dapat menghasilkan senyawa enzim hidrolitik yang meliputi lipase, protease, selulase dan pektinase yang dimana diketahui dapat menyebabkan sangat virulen terhadap inang sasaran baik pada penyakit atau hama (Erdiansyah, 2023).

T. asperellum dapat berperan sebagai antibiosis yang dimana metabolit sekunder yang bersifat antibiotik, seperti gliotoksin dan tricothecium yang berperan untuk menghambat pertumbuhan patogen dengan cara merusak dinding selnya. Mekanisme kerja dari agens antagonis *T. asperellum* yaitu dengan mengeluarkan toksin berupa senyawa kitinase, glukonase dan protease yang mampu mendegradasi dinding sel cendawan dan mikoparasit tumbuh dengan tumbuhnya hifa untuk menghancurkan dinding sel dan mengambil nutrisi larva (Devry, 2020).

Enzim-enzim tersebut berperan penting dalam proses mikoparasitisme dan menginfeksi patogen. Menurut penelitian dari Kumalasari (2016), dan Manan (2018), menyatakan bahwa cendawan *Aspergillus* sp. dan *Trichoderma* sp. termasuk dalam kelompok oportunistik, karakteristik dari jamur oportunistik yang mampu menyebabkan infeksi luka dan melemahkan serangga target. Infeksi dari cendawan *Aspergillus* sp. dan *Trichoderma* sp. dapat mencapai 20–60% terhadap virulensi terhadap *S. litura* dimana dapat berpengaruh nyata dalam mengendalikan populasi hama *S. litura*. Penggunaan langsung dari tiga jenis cendawan yaitu *T.*

asperellum, *A. niger*, dan *A. flavus* yaitu untuk mengetahui jenis cendawan yang paling efektif pada dengan konsentrasi sama 10^6 yang digunakan dan untuk mengetahui tingkat mortalitas yang berpengaruh nyata terhadap larva *S. exigua*

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh jenis cendawan antagonis *T. asperellum* *A. niger*, dan *A. flavus* dengan satu taraf kosentrasi yang sama pada masing-masing perlakuan baik di motode topikal dan metode pakan untuk melihat efektivitas dari tiga jenis cendawan tersebut dalam mengendalikan hama tanaman bawang merah *S. exigua*.

1.2 Landasan Teori

1.2.1 Bioekologi *S. exigua* dan dampak serangan pada tanaman bawang merah (*Allium ascalonium* L.)

Larva *S. exigua* yaitu hama utama bawang merah, yang menyerang tanaman bawang sejak awal pertumbuhan dan mengakibatkan kehilangan hasil yang tidak sedikit. Larva ini menimbulkan kerusakan dengan cara memakan daun tanaman, hama ini menyerang tanaman bawang daun secara berkoloni membuat lubang pada daun, kemudian merusak jaringan vaskuler dan masuk ke pipa daun sambil memangsa daging daun dalam. Gejala umum yang biasanya menyerang pada daun bawang merah akan tampak bercak putih memanjang seperti membran, berlubang, layu, mengering dan didekat lubang terdapat kotoran ulat bekas dari penggorokan pada daun bawang merah, jika bawang merah yang habis dimakan oleh *S. exigua* biasanya pindah mencari tanaman baru yang utuh untuk dimakan. Dampak dari serangan *S. exigua* dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan tanaman bahkan dapat menyebabkan kematian pada tanaman (Suciawanti, 2022).

Menurut Baharuddin (2014), menjelaskan klasifikasi *Spodoptera exigua* sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insekta
Ordo	: Lepidoptera
Famili	: Noctuidae
Genus	: <i>Spodoptera</i>
Spesies	: <i>Spodoptera exigua</i>

Intensitas serangan berat *S. exigua* mengakibatkan adanya bercak-bercak transparan pada daun karena termakannya jaringan daun dibagian dalam daun tanaman bawang merah menjadi mengering dan gugur sebelum pada waktunya sehingga kualitas dan kuantitas bawang merah menjadi menurun. Kerugian secara ekonomis dari serangan hama dapat mencapai 100% karena daunnya habis dimakan oleh larva sehingga kegagalan panen tidak bisa dihindari. Menurut Permadi et al. (2020) melaporkan bahwa serangan *S. exigua* dapat menyebabkan

kehilangan hasil mulai dari 57–100% jika menyerang pada fase vegetatif. Jika penyebaran larva *S. exigua* tergolong cepat dapat menyerang pada musim kemarau maupun musim penghujan. Jika daun tanaman bawang merah sudah layu dan menguning maka larva *S. exigua* akan bergerak untuk menggerek umbi sehingga tanaman bawang merah menjadi mati. Pengendalian larva *S. exigua* dapat memanfaatkan agens hayati yang berperan untuk mengurangi jumlah larva *S. exigua* di lahan pertanian. Penggunaan Metode ini dapat membantu menjaga keseimbangan ekosistem pertanian, sehingga mendukung keberlanjutan jangka panjang bagi konsumen rendah residu pestisida (Pratiwi, 2022).

1.2.2 Siklus hidup *Spodoptera exigua*

Siklus hidup *S. exigua* dimulai dari fase telur, larva, pupa sampai imago. Pergantian musim yang beragam sangat memengaruhi siklus pada hidup larva *S. exigua*, pada siklus perkembangbiakan dari fase pupa sampai imago yang mengalami secara metamorfosis sempurna (Holometabola) populasi dari *S. exigua* pada siklus hidup dapat diselesaikan hanya dalam waktu 24 hari (Purnamaratih, 2018).

1.2.3 Telur

Pada dataran rendah lamanya stadium telur *S. exigua* berlangsung dua hari sedangkan pada dataran tinggi berlangsung tiga hari. Telur *S. exigua* berbentuk oval, telur berwarna hijau atau kuning terang diletakkan pada malam hari pada daun bawah dalam bentuk kluster yang masing-masing terdiri dari 50–150 butir telur, telur ditutupi bulu-bulu halus yang berwarna putih atau putih kekuning-kuningan. Biasanya diletakkan secara berkelompok, pada fase telur akan ditutupi oleh rambut halus berwarna putih. Telur ini akan berubah menjadi kehitaman jika akan menetas, pada satu kelompok telur terdapat kurang lebih 80 butir telur yang dihasilkan, telur tersebut akan menetas dalam waktu 2–5 hari, pada umumnya telur akan menetas pada pagi hari (Baharuddin 2014).

1.2.4 Larva

Stadium ulat terdiri dari 5 instar. Instar pertama biasa berkelompok disekitar telur menetas warnanya hijau muda panjangnya sekitar 1,2–1,5 mm, instar kedua warnanya mulai berubah dari hijau muda menjadi hijau tua dan panjangnya sekitar 2–3 mm, pada awal memasuki instar tiga ditandai dengan warna hijau tampak pada bagian abdomen warna hitam melintang dengan panjang 6,2–8 mm, instar empat panjangnya 12,5–14 mm. Setelah instar terakhir larva merayap atau menjatuhkan diri ke tanah untuk berkepompong dan warna larva berubah menjadi cokelat muda dengan panjang 16,5–20 mm (Su'ud, 2019).

1.2.5 Pupa

Fase pupa *S. exigua* pada umumnya terletak dibawah permukaan tanah dengan membentuk puparium (kulit pupa) dibentuk dari pasir dan partikel tanah yang disatukan dengan cairan yang keluar dari mulut yang mengeras ketika kering. Pupa berada dalam tanah pada kedalaman kurang lebih 1,1–2 cm. Proses pembentukan pupa terjadi di tanah dengan ciri-ciri pupa berwarna cokelat kekuningan dengan

panjang tubuh 15–20 mm. Pada kedalaman tersebut suhu tanah hangat sehingga memudahkan kemunculan imago, pada kondisi tanah seperti itu periode fase pupa berlangsung selama 6–8 hari. Rata-rata siklus hidupnya pada bawang merah 9–14 hari tergantung pada kondisi lingkungan (Kusumawati, 2022).

1.2.6 Serangga Dewasa (Imago)

Serangga dewasa (Imago) *S. exigua* berupa ngengat panjang tubuh 10–14 mm dengan jarak rentang sayapnya 25–30 mm. Sayap bagian depan berwarna putih ke abu-abuan. Pada bagian tengah sayap depan terdapat tiga pasang dengan bintik-bintik berwarna perak dan biasanya terdapat pola pita yang tidak beraturan. Pada bagian sayap belakang berwarna putih dan pada bagian tepi sayap berwarna cokelat kehitam-hitaman. Imago betina dapat bertelur kurang lebih 2000 sampai 3000 butir, pada malam hari, telur tersebut diletakkan secara berkelompok pada permukaan daun bawang merah (Kusumawati, 2022).

1.2.7 Peran Cendawan *Aspergillus niger* dan *Aspergillus flavus* dalam mengendalikan *S. exigua*

Jenis cendawan *A. niger* memiliki manfaat dalam dunia pertanian yaitu manfaatnya dapat dijadikan sebagai agens hayati yang dapat menghasilkan enzim kitinase dan β -1,3 glukonase (laminarinase) yang dapat merusak komponen pada dinding sel cendawan patogen. Penggunaan *A. niger* dapat berperan untuk memperlambat pertumbuhan patogen dari mekanisme kerja enzimatik atau toksin yang dihasilkan sehingga dapat menghambat perkembangan jamur patogen (Erdiansyah, 2023).

Pada umumnya jenis *A. flavus* sebagai cendawan saprofit akan tetapi dapat menginfeksi serangga pada rentangan jenis yang luas. Penghambatan yang dilakukan oleh cendawan *A. flavus* yaitu dengan menghasilkan senyawa toksin untuk menginfeksi tubuh serangga inang melalui membran intersegmental, menyebar keseluruh lapisan dinding tubuh dengan bantuan enzim proteinase, lipase dan kitinase yang mempunyai kemampuan untuk memecah komponen dinding sel cendawan patogen (Jumiati, 2021). Pada cendawan jenis *A. niger* merupakan cendawan antagonis yang menghasilkan senyawa zat aspergillin yang dapat menghambat perkembangan cendawan seperti patogen *Cercospora arachidicola* penyebab penyakit bercak daun (Tambingsila, 2020).

Penggunaan aspergillus sp. secara umum yaitu sebagai biopestisida karena memiliki kemampuan dalam menghasilkan mikotoksin untuk membunuh serangga. Pemanfaatan cendawan *Trichoderma* sp. juga memiliki sifat antifungal yang dimana bermanfaat dalam mengendalikan jamur patogen. Aktivitas antagonis tersebut meliputi persaingan parasitisme, predasi, maupun pembentukan toksin. Oleh karena itu isolat *Trichoderma* sp. dimanfaatkan biofungisida alami dalam pengendalian hama maupun penyakit (Agastya, 2018).

Berdasarkan potensinya tersebut cendawan *Aspergillus* sp. berperan pada akar tanaman dapat memberikan dampak hasil yang cukup besar karena dapat merangsang pertumbuhan pada tanaman, dan dapat memperbaiki pertumbuhan dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Mawarni, 2021).

1.2.8 Cendawan *Trichoderma asperellum*

Agens hayati *Trichoderma asperellum* yaitu jenis cendawan yang bersifat antagonis, dimana mampu mengendalikan patogen penyebab penyakit pada berbagai jenis tanaman. Cendawan *T. asperellum* mampu meningkatkan produksi, ketahanan pada tanaman, disamping itu peran *T. asperellum* mempunyai daya kompetisi yang tinggi, memiliki daya tahan hidup yang lama dan mampu mengkolonisasi substrat dengan cepat, sifat antagonis yang dimiliki mampu berperan dalam mikroparasit pada patogen tumbuhan. Kemampuan *T. asperellum* sebagai parasit dan bersifat antibiosis karena menghasilkan enzim yang secara aktif mampu mendegradasi sel-sel patogen, sehingga menyebabkan lisisnya sel-sel cendawan patogen dan mengeluarkan trikotoksin yang mematikan (Galung, 2021).

T. asperellum efektif dan ramah lingkungan untuk mengurangi persentase dan intensitas penyakit seperti penyakit moler atau busuk pangkal dan hama pada tanaman bawang merah. Peran *T. asperellum* dapat menghambat pertumbuhannya patogen antara lain yaitu kompetisi, parasitisme, antibiosis, dan lisis. Mekanisme kerja dari agen antagonisme *T. asperellum* terhadap cendawan patogen yaitu dilakukan dengan mengeluarkan toksin berupa enzim β -1,3 glukonase, kitinase, dan selulase yang dapat menghambat pertumbuhan hama atau penyakit bahkan dapat membunuh patogen yang menyerang tanaman bawang merah. Kemampuan dari *T. asperellum* efektif untuk bertahan dan mengkolonisasi lingkungan yang kompetitif di rizosfer, filosfer dan spermosfer (Abdullah, 2022).

Berdasarkan hasil pengujian *T. asperellum* memiliki beberapa mikroba antagonis yang mampu menekan berbagai jenis patogen pada tanaman. Manfaat *T. asperellum* dapat memperlambat waktu inkubasi yang terjadi pada persaingan antara patogen dengan antagonis, sehingga patogen membutuhkan waktu lebih lama untuk menginfeksi tanaman, kemampuan dimiliki tersebut dapat menekan infeksi patogen melalui mekanisme diantaranya persaingan nutrisi, hal ini dapat menghasilkan senyawa antibiotik ataupun senyawa toksin lain (Manan, 2018)

1.3 Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu menguji efektifitas jenis cendawan *T. asperellum*, *A. niger*, dan *A. flavus*, sebagai agens hayati dengan satu taraf konsentrasi yang sama dalam mengendalikan *S. exigua* hama bawang merah (*Allium ascalonium* L.).

Kegunaan dari penelitian ini yaitu dapat menjadi bahan informasi mengenai pengaruh pemanfaatan cendawan jenis *A. niger*, *A. flavus* dan *T. asperellum* dalam mengendalikan larva *S. exigua*

1.4 Hipotesis Penelitian

Penggunaan tiga jenis cendawan antagonis dengan satu taraf konsentrasi yang sama setidaknya terdapat satu atau lebih jenis cendawan yang berpengaruh signifikan terhadap mortalitas larva *S. exigua* dari dua metode aplikasi (topikal dan pakan) yang digunakan.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin Kec. Tamalanrea Indah, Kota Makassar. Penelitian ini berlangsung pada bulan Juli sampai November 2024.

2.2 Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kotak sangkar (20x20x80 cm) sebagai tempat imago, wadah kecil, kain tile, kertas saring, kuas kecil, mikroskop digital, kapas, pipet tetes, laminar air flow, cawan Petri, Erlenmeyer, mikroskop mikrobiologi, hemocytometer, pipet mikron, lampu bunsen, jarum preparat, Cork borer, korek api, gunting, kamera, tabung reaksi, timbangan analitik, aluminium foil, kertas label, lakban, daubletape, tissue, plastik wrapping, botol hand sprayer kecil ukuran 60 mL, alat tulis, dan polibag (35x35 cm).

Bahan yang digunakan yaitu, isolat cendawan *T. asperellum*, *A. niger*, *A. flavus*, larva *S. exigua*, alkohol 70%, kentang, agar-agar, Chloramphenicol, spiritus, aquades steril, madu yang telah diencerkan 10%, tanah (media tanam bawang merah), pupuk kandang, daun bawang merah (sebagai pakan larva).

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan menggunakan empat perlakuan dan tiga ulangan. Setiap ulangan menggunakan 10 larva dengan satu taraf konsentrasi masing-masing sama, pengaplikasian cendawan pada larva menggunakan dua metode yaitu metode topikal dan pakan (pada metode ini pakan serangga yang dicelupkan selama lima detik ke dalam larutan uji). Larva yang digunakan sebagai larva uji yaitu larva instar tiga. Adapun perlakuan tersebut digunakan sebagai berikut:

- P0 : Kontrol
- P1 : Konsentrasi *T. asperellum* $10^6/1$ mL
- P2 : Konsentrasi *A. niger* $10^6/1$ mL
- P3 : Konsentrasi *A. flavus* $10^6/1$ mL

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Persiapan Tanaman Bawang Merah

Bibit bawang merah ditanam pada polibag berukuran 35 x 35 cm yang berisi pupuk kompos dan tanah. Penyiraman tanaman bawang dilakukan satu kali sehari agar pertumbuhan bawang merah bagus, setelah umur 1–3 bulan tanaman bawang merah siap digunakan. Tanaman bawang merah ini digunakan sebagai pakan untuk memperbanyak larva *S. exigua* yang akan diujikan di laboratorium.

2.4.1 Pengambilan larva *S. exigua*

Proses pengambilan larva *S. exigua* berlokasi di Kabupaten Enrekang dan Kabupaten Jeneponto. Pengambilan sampel serangga uji dilakukan dengan cara mencari kelompok telur atau larva *S. exigua* pada tanaman bawang merah kemudian memetik bagian daun bawang merah yang terdapat telur atau larva. Jumlah dari telur atau larva *S. exigua* dipelihara dan diperbanyak di laboratorium untuk keperluan uji.

2.4.2 Perbanyakan larva *S. exigua* di laboratorium

Larva *S. exigua* diletakkan di dalam wadah cup plastik ukuran 120 mL, dalam satu cup berisi satu larva berisi daun bawang merah yang sudah disiapkan. Larva *S. exigua* dipelihara dan beri makan daun bawang merah hingga menjadi pupa. Pupa yang telah menjadi imago dimasukkan ke dalam kotak sangkar (20x20x80 cm), imago diberi makan dengan madu sebanyak 10% (madu yang diencerkan sebanyak 10 mL dengan air putih bersih 10 mL), madu disemprotkan pada kapas di dalam sangkar imago yang disemprotkan pada kapas setiap 1–2 kali sehari sampai imago bertelur. Imago yang bertelur kemudian diambil telurnya dan dipindahkan ke tempat wadah yang baru. Telur *S. exigua* dipelihara hingga menetas menjadi larva, larva tersebut *S. exigua* dipelihara sampai instar tiga untuk digunakan sebagai bahan percobaan. Ciri-ciri larva *S. exigua* yang sudah termasuk instar tiga yaitu ketika larva *S. exigua* sudah berganti kulit dari instar satu kedua yang dimana pergantian kulit larva dapat dilihat dari bekas makanannya jika terdapat bekas pergantian kulit dimakanannya dan jumlah ukuran lubang makanan semakin besar dari instar sebelumnya maka larva sudah memasuki instar tiga.

2.4.3 Pembuatan Potato Dextrose Agar (PDA)

Pembuatan *potato dextrose agar* (PDA), membutuhkan alat seperti Erlenmeyer ukuran 500 mL/ 100 mL, cawan Petri, aluminum foil, plastik wrapping, dan bahan seperti kentang 200 g, agar-agar 15 g, gula pasir 20 g, air steril 1000 mL serta Chloramphenicol. Bahan-bahan yang sudah disediakan kemudian dibuatkan media PDA. PDA yang sudah jadi kemudian diautoklaf dengan suhu 121 °C, tujuan diautoklaf untuk mensterilisasikan bahan yang akan digunakan. Media yang sudah diautoklaf lalu diamkan 5–8 menit sampai media PDA sudah dalam keadaan hangat, selanjutnya dilakukan proses penuangan media kedalam cawan Petri yang sebelumnya sudah di oven (sterilisasi kering). Penuangan dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF) agar bahan yang digunakan tetap steril. Media PDA yang sudah dituangkan lalu disimpan ke tempat yang bersih dan aman agar tidak mudah terkontaminasi pada media.

2.4.4 Perbanyakan Isolat Cendawan *Aspergillus niger*, *A. flavus* dan *Trichoderma asperellum* pada Media PDA

Isolat cendawan *T. asperellum*, *A. niger*, dan *A. flavus* diperoleh dari Laboratorium Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Hasanuddin. Cendawan *T. asperellum*, *A. niger*, dan *A. flavus* kemudian disubkultur pada media *potato dextrose agar* (PDA) di dalam cawan Petri dalam laboratorium ruang LAF agar

cendawan yang akan digunakan tidak mudah terkontaminasi dari benda-benda asing. Cendawan diperbanyak sampai siap untuk diaplikasikan pada serangga uji, adapun umur dari cendawan yang digunakan saat pengaplikasian yaitu 4 hari setelah pemurnian, cendawan yang selesai diperbanyak kemudian disimpan pada tempat yang bersih dan aman untuk proses pertumbuhan cendawan yang akan digunakan pada serangga uji.

2.4.5 Pembuatan Substansi Isolat cendawan

Pada tahap pembuatan isolat cendawan diperlukan alat dan bahan yang digunakan yaitu kuas kecil atau scalpel (pisau bedah), aluminium foil, plastik wrapping, korek api, lampu bunsen, isolat cendawan, aquades steril, Erlenmeyer ukuran 50 mL. Proses pembuatan isolat cendawan dilakukan di dalam ruangan LAF dengan cara menambahkan aquades steril sebanyak 25 mL kedalam cawan Petri yang berisi cendawan, kemudian disisir menggunakan scalpel (pisau bedah) atau kuas kecil steril sampai konidia cendawan terangkat semua, selanjutnya cendawan di masukan ke dalam Erlenmeyer ukuran 50 mL yang terlebih dahulu sudah sterilisasi permukaan, lalu tutup *Erlenmeyer* dengan menggunakan aluminium foil kemudian di wrapping dengan rapat.

Penggunaan substansi isolat cendawan harus mengetahui berapa jumlah kerapian spora yang akan digunakan, jika kerapantan spora tidak padat maka tidak perlu melakukan proses pengenceran pada cendawan yang akan digunakan, tetapi jika spora memiliki kerapatan yang padat maka dilakukan tahap pengenceran agar diketahui berapa jumlah spora cendawan yang akan digunakan.

2.4.6 Perhitungan produksi spora

Perhitungan spora pada media isolat cendawan dilakukan dengan cara mengambil 1 mL suptensi cendawan di Erlenmeyer, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah terlebih dahulu diisi dengan aquades steril sebanyak 9 mL, selanjutnya ambil isolat cendawan sedikit lalu ditetaskan di atas *haemocytometer* dan ditutup dengan deglass. Kerapatan spora dihitung dengan menggunakan alat *haemocytometer* di bawah mikroskop. Berdasarkan dari penelitian Utami, (2023) perhitungan kepadatan spora jamur dihitung dengan persamaan berikut ini:

$$C = \frac{t \times d}{n \times 0,25} \times 10^6$$

Keterangan

- C : Kerapatan spora per mL larutan
 t : Jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati
 d : Tingkat pengenceran
 n : Jumlah kotak sampel yang diamati
 0,25 : Adalah faktor koreksi menggunakan kotak sampel skala kecil pada *hemocytometer*

2.4.7 Pengenceran Cendawan *Trichoderma asperellum*, *Aspergillus niger*, dan *A. flavus*.

Pada proses pengenceran dilakukan untuk menentukan konsentrasi berapa yang akan digunakan. Pada tahap pengenceran ini menyiapkan 9 tabung reaksi yang telah diisi dengan aquades steril 9 mL, selanjutnya ambil 1 mL substansi cendawan masukkan ke dalam tabung reaksi 1, ambil 1 mL dari tabung reaksi 1 masukkan ke tabung reaksi ke 2 kemudian homogenkan. Lakukan cara yang sama sampai pada tabung reaksi terakhir.

2.4.8 Pengaplikasian Cendawan *Trichoderma asperellum*, *Aspergillus niger*, dan *A. flavus* pada serangga uji

Pengaplikasian pada metode topikal dengan cara mengambil 1 mL subtpensi cendawan *A. niger*, *A. flavus*, dan *T. asperellum* masing-masing setiap perlakuan suspensi isolat cendawan menggunakan pipet tetes dengan volume tetes 0,25 mL, kemudian larva uji ditetesi suspensi isolat cendawan sebanyak tiga tetes dengan masing-masing perlakuan konsentrasi 10^6 , serangga uji diletakkan dalam wadah cup ukuran (6,5X4,5X4,5 cm) setiap wadah berisi 1 larva *S. exigua*. Mekanisme terinfeksi cendawan setelah diaplikasi pada larva yaitu tubuh larva akan mengalami munculnya hifa pada cendawan dengan adanya penempelan konidia pada kutikula serangga. Setelah itu, konidia akan melakukan penetrasi ke dalam jaringan larva uji melalui integumen, kemudian terjadi kolonisasi dalam hemolimfa dari menginfeksi saluran makanan hingga hifa cendawan tumbuh pada tubuh larva. Pada proses ini biasanya seperti senyawa lipase, protease, dan kitinase yang membantu dalam penetrasi dan merusak jaringan larva sehingga akan berubah menjadi warna hijau gelap atau putih kehitaman dan mengering.

Pada metode pakan menggunakan daun bawang yang terlebih dahulu sudah digunting dengan ukuran yang sama, kemudian daun bawang dicelupkan pada suspensi cendawan sebanyak 1 mL selama 5 detik pada masing-masing perlakuan dengan konsentrasi sama 10^6 pada cendawan yang digunakan, sedangkan untuk perlakuan kontrol hanya diberi pakan daun bawang setiap hari pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat mortalitas pada serangga uji dan mencatat gejala-gejala yang muncul pada larva setelah diaplikasikan *T. asperellum*, *A. niger*, dan *A. flavus*. Mekanisme cendawan yang aplikasikan pada metode pakan yaitu saat larva mengonsumsi pakan yang terkontaminasi konidia cendawa. Spora cendawan tumbuh berkecambah di usus dan memulai infeksi. Konidia yang telah dicerna oleh larva kemudian berkembang di lumen usus, memperparah kerusakan melalui kombinasi enzim litik dan toksin. Toksin ini merusak jaringan tubuh larva melalui inhibisi sintesis protein, dan merusak membran sel menembus jaringan tubuh larva yang menyebabkan kematian pada larva.

2.4.9 Reisolasi Patogen

Hasil dari pengaplikasian *T. asperellum*, *A. niger*, dan *A. flavus* pada larva *S. exigua* yang telah mati kemudian dilakukan proses reisolasi pada media PDA, maksud dari dilakukan reisolasi pada cendawan yaitu untuk membuktikan apakah larva yang mati diakibatkan oleh cendawan yang digunakan.

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

Pada pengamatan yang dilakukan yaitu dengan menghitung jumlah larva yang masih hidup dan yang mati pada tiap perlakuan setelah di aplikasikan *T. asperellum*, *A. niger*, dan *A. flavus* dan mencatat gejala-gejala yang muncul pada larva tersebut. Pengamatan mortalitas total larva dimulai setelah satu hari dari pengaplikasian (24 jam setelah aplikasi) hingga hari terakhir pengamatan. Berdasarkan persentasi mortalitas menurut Manurung (2020), dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$MT = \frac{b}{a + b} \times 100\%$$

Keterangan :

MT = Persentase mortalitas ulat grayak (*Spodoptera exigua*)

a = Jumlah ulat grayak (*Spodoptera exigua*) yang masih hidup

b = Jumlah ulat grayak (*Spodoptera exigua*) yang mati

Pada saat pasca aplikasi pada larva yang masih hidup sampai sudah mati mengamati perubahan pada larva yang terinfeksi oleh cendawan *A. niger*, *A. flavus* dan *T. asperellum*

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, kemudian dianalisis secara statistika dengan sidik ragam atau ANOVA, jika ditemukan data yang berbeda nyata maka akan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5% (0,05).